

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie
der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. E. Scharrer)

**UNTERSUCHUNGEN ZUR REGULATION
DES ELEKTROLYTTTRANSPORTS
DURCH DAS PANSENEPITHEL VON SCHAFEN**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von

Rolf Frischknecht
Tierarzt
von Herisau AR

genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. E. Scharrer, Referent
Prof. Dr. E. Jenny, Korreferent

Zürich 1987

Maus-Offsetdruck Konstanz

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie
der Universität Zürich

(Direktor: Prof. Dr. E. Scharrer)

**UNTERSUCHUNGEN ZUR REGULATION DES ELEKTROLYTTTRANSPORTS
DURCH DAS PANSENEPITHEL VON SCHAFEN**

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von

ROLF FRISCHKNECHT
Tierarzt
von Herisau AR

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. E. Scharrer, Referent

Prof. Dr. E. Jenny, Korreferent

Zürich 1987



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41507222_0021

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG	1
LITERATUR	2
Die elektrische Potentialdifferenz über die Pansenmukosa	2
Der Elektrolyttransport durch die Pansenmukosa	4
<i>Natriumtransport</i>	4
<i>Den Natriumtransport beeinflussende Faktoren</i>	6
<i>Einfluss von Kalium und Chlorid auf die Natriumresorption</i>	6
<i>Chloridtransport</i>	7
<i>Kaliumtransport</i>	8
<i>Einfluss von 3',5'-cyclo-Adenosinmonophosphat (cAMP)</i> <i>auf den transepithelialen Natrium- und Chloridtransport</i>	8
MATERIAL UND METHODE	11
Versuchstiere	11
Mukosagewinnung	11
Diffusionskammer und Inkubationstechnik	12
Elektrische Messungen	14
Markierung, Probeentnahme und Radioaktivitätsmessung	15
Berechnung der Ergebnisse	16
Statistik.	17
ERGEBNISSE	19
Versuchsreihe A	19
Versuchsreihe B	26
"Paradoxe Potentiale"	30
Weitere Ergebnisse.	34
DISKUSSION	35
ZUSAMMENFASSUNG	40

SUMMARY	41
LITERATURVERZEICHNIS	42
DANKSAGUNG	52
LEBENS LAUF	53

EINLEITUNG

Der Pansen der Wiederkäuer stellt eine grosse Gärkammer für den mikrobiellen Abbau der Kohlenhydrate des Futters zu flüchtigen Fettsäuren dar.

Der Pansen des Wiederkäuers ist aber auch für die Elektrolythomöostase von entscheidender Bedeutung. Es ist bekannt, dass grosse Mengen von Natrium, Chlorid und anderen Elektrolyten über den Speichel, im Vergleich dazu aber nur geringe Mengen über die Nahrung in den Pansen gelangen (33, 54). So werden zum Beispiel beim Schaf ungefähr 1200 mmol Natrium pro Tag über den Speichel sezerniert, wohingegen die tägliche Aufnahme über die Nahrung nur etwa 60 mmol beträgt (34). Die Reabsorption der Elektrolyte aus dem Magen-Darm-Trakt trägt somit entscheidend zur Aufrechterhaltung der Elektrolythomöostase bei. Wie der Arbeit von Keynes und Harrison (36) zu entnehmen ist, wird etwa die Hälfte des in den Pansen gelangenden Natriums bereits im Reticulorum und Omasum resorbiert. Zudem weiss man, dass Chlorid ebenfalls in grösseren Mengen aus dem Pansen resorbiert wird. Ob die Elektrolytresorption aus dem Pansen einer Regulation unterliegt, ist unbekannt.

Diese Arbeit hatte zum Ziel, den Einfluss verschiedener Substanzen, die an anderen Epithelien den Elektrolyttransport beeinflussen, auf die elektrophysiologischen Parameter der isolierten Pansenschleimhaut sowie den transepithelialen Natrium- und Chloridtransport zu prüfen. Insbesondere wurde untersucht, ob cAMP den ruminalen Elektrolyttransport beeinflusst, da cAMP als second messenger mancher Hormone und Transmitter fungiert (14, 43).

LITERATUR

Die elektrische Potentialdifferenz über die Pansenmukosa

Bei in vivo-Messungen am Pansen des Schafes stellte Dobson (7, 9) sowie Ferreira et al. (11) eine transepitheliale Potentialdifferenz (PD) von etwa 30 mV fest. Dabei war die Blutseite gegenüber der Lumenseite positiv geladen. Das Zustandekommen dieser Potentialdifferenz lässt sich zum grössten Teil auf einen aktiven elektrogenen Natriumtransport vom Lumen ins Blut zurückführen (11, 34, 36). Ferreira et al. (11) berichteten, dass bei Natriumkonzentrationen unter 12 mmol/l in der Pansenflüssigkeit des Schafes eine direkte Proportionalität zwischen der Natriumkonzentration und dem Potential über die Pansenschleimhaut hinweg besteht. Dieser Effekt konnte bei in vitro-Versuchen allerdings nicht beobachtet werden (12). Eine Abhängigkeit der transepithelialen Potentialdifferenz von der Kaliumkonzentration konnte jedoch sowohl in vivo als auch in vitro gezeigt werden (12, 23, 48, 51), wobei die Potentialdifferenz direkt dem Logarithmus der Kaliumkonzentration im Pansenlumen oder im mucösen Inkubationsmedium proportional war (12). Die Zunahme der Potentialdifferenz betrug in diesen Experimenten bei einer zehnfachen Erhöhung der Kaliumkonzentration etwa 40 mV (12). Ferreira et al. (12) und Scott (48) führten diese Veränderung des transepithelialen Potentials auf die passive Diffusion von Kalium zurück. Stacy und Warner (55) stellten fest, dass schon ein mässiger Anstieg der Osmolalität des Panseninhalts eine deutliche Erhöhung der Potentialdifferenz hervorruft. Stieg die Osmolalität hingegen sehr stark an, kam es zu einem Potentialabfall. Morphologisch war unter diesen Bedingungen eine Veränderung der äussersten Zellige des Stratum granulosum zu beobachten, in der beim Schaf zonulae occludentes gefunden werden konnten. Jene werden von verschiedenen Autoren (20, 46, 47) als Permeabilitätsbarriere für den trans-

epithelialen Natriumtransport angesehen. Ouabain (G-Strophantin), ein Hemmer der Na-K-ATPase, bewirkte in vitro nach Zugabe ins seröse Medium ein allmähliches Zusammenbrechen des Potentials (12, 25, 34, 36). Ebenso wirkte eine Gewebsanoxie (12, 23, 57). Verschiedene Autoren stellten bei Ionensubstitutionsversuchen, wobei sie Chlorid im Inkubationsmedium durch Sulfat ersetzten, eine Erhöhung der transmukosalen Potentialdifferenz fest (12, 13, 25, 36), die möglicherweise auf eine grössere Permeabilität des Pansenepithels für Chlorid als für Sulfat zurückzuführen ist (4).



Der Elektrolyttransport durch die Pansenmukosa

Natriumtransport

Nach in vivo- und in vitro- Experimenten findet eine ruminale Nettoresorption von Natrium auch gegen einen elektrochemischen Gradienten statt (7, 33, 42, 53). Aufgrund der morphologischen Verhältnisse des Pansenepithels und des Nachweises einer in der Plasmamembran unverhornter Zellen der Pansenschleimhaut vorkommenden Na,K-ATPase formulierte Henrikson einen möglichen Transportweg für Natrium durch das Pansenepithel (28, 29): Von der luminalen Oberfläche gelangt Natrium durch Diffusion (1, Abb. 1) in die verhornten Zellen. Durch Zonulae communicantes zwischen den Schichten a und b (2, Abb. 1) diffundiert es weiter in die tiefer gelegenen Epithelschichten, und wird dann aktiv durch die Na,K-ATPase in den Extrazellulärraum gepumpt (3, Abb. 1). Auf diese Weise entsteht ein osmotischer Gradient und Wasser fließt passiv in das interzelluläre Kanalsystem nach (4, Abb. 1). Ähnlich dem von Diamond (5) für die Gallenblase beschriebenen Mechanismus erfolgt damit ein ständiger Transport von Wasser und Elektrolyten durch das Epithel.

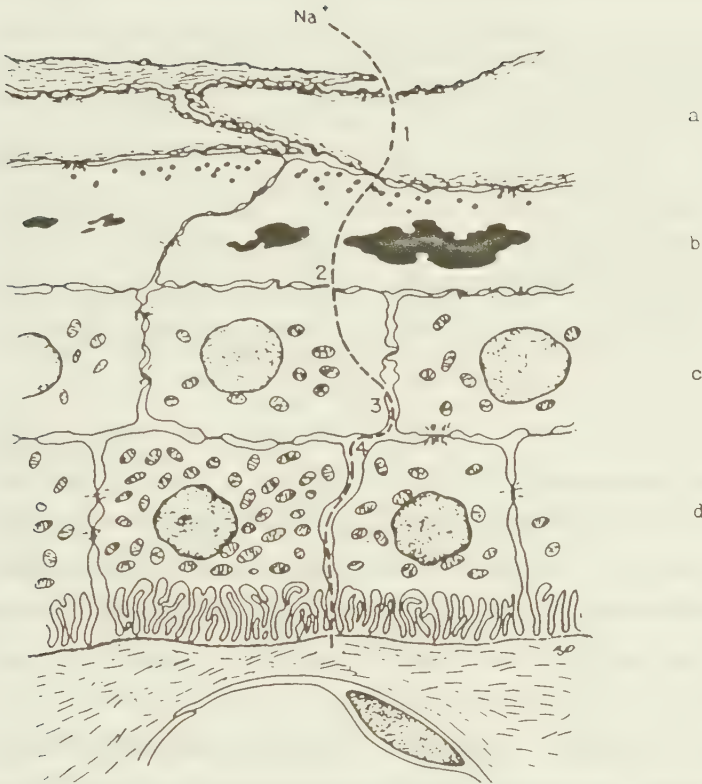


Abb.1 Schematische Darstellung des Pansenepithels (Henrikson, 28)

Das stratum corneum (a) wird durch abgeflachte, stark verhornte Zellen und vakuolisierte Zellen gebildet. Keratohyalin granula charakterisieren das darunter liegende stratum granulosum (b) mit sehr engen Interzellularräumen und breitflächigen Desmosomen (Barriere). Die Zellen, die in den übrigen Schichten (c=stratum spinosum, d=stratum basale) liegen, enthalten viele Mitochondrien und sind von einem weiten Interzellularraum umgeben. Der von Henrikson (28) angenommene Weg für den aktiven Natriumtransport ist eingezeichnet und wird im Text erklärt.

Den Natriumtransport beeinflussende Faktoren

Medl (39) konnte zeigen, dass ein aktiver Natriumtransport durch das Pansenepithel zwar schon beim neugeborenen Lamm vorhanden ist, dass aber die ruminale Na^+ -Resorption mit der Entwicklung des Pansenepithels zunimmt. In der erwähnten Arbeit wurde gezeigt, dass bei mit Heu und Kraftfutter ernährten Lämmern der Netto-Natrium- und der Netto-Chloridflux, auf gleiche Makrofläche bezogen, viermal grösser war als bei milchernährten Lämmern, deren Vormagenentwicklung weniger weit fortgeschritten war.

Ein moderater Anstieg der Osmolalität des Panseninhalts stimuliert die ruminale Natriumresorption (56, 59, 62); steigt jedoch die luminale Osmolalität stark an, so bewirkt dies eine sehr starke Reduktion der Nettonatriumabsorption (60, 62). Gemmel (20) führte dies auf eine strukturelle Veränderung in der äussersten Zellage des Stratum granulosum zurück, welche eine Steigerung der Diffusion von Natrium aus dem Blut in das Pansenlumen bewirkt.

Die Zugabe von Ouabain (G-Strophantin) in das die seröse Seite der isolierten Pansenmukosa bespülende Inkubationsmedium (=seröses Medium) führte in vitro zum völligen Sistieren der Nettonatriumabsorption (12, 26, 34, 36). Dieser Effekt ist auf eine spezifische Hemmung der Na, K-ATPase durch Ouabain zurückzuführen. Auch durch Sauerstoffmangel im Gewebe wird der aktive Transport von Natrium rasch unterbunden (25).

Einfluss von Kalium und Chlorid auf die Natriumresorption

Die aktive Natriumabsorption steigt mit zunehmender Kaliumkonzentration des Panseninhalts an (49, 58, 63, 64). Waren die Kaliumkonzentrationen im Pansen jedoch so hoch, dass sie einen osmotisch bedingten Wassereinstrom

verursachten, so wurde die Nettonatriumresorption deutlich reduziert. Ebenso scheint nach in vitro- Versuchen der Chloridgehalt im Inkubationsmedium für den Natriumtransport durch die isolierte Pansenmukosa wichtig zu sein. Mehrere Arbeitsgruppen (4, 13, 25, 26, 34, 36) kamen zu dem Schluss, dass eine signifikante Kopplung zwischen dem aktiven Chlorid- und Natriumtransport besteht. So wurden bei Substitution von Chlorid durch Sulfat im Inkubationsmedium die unidirektionalen Natriumfluxe deutlich reduziert, wobei der Kurzschlussstrom zunahm (13). Einige Autoren stellten sogar eine starke Abnahme des Nettonatriumtransportes fest (4, 13, 25).

Chloridtransport

Wie Natrium wird auch Chlorid gegen einen Konzentrationsgradienten aus dem Panseninhalt resorbiert (6, 8, 33, 42, 50, 53). Nach Instillation einer NaCl-Lösung in das Pansenlumen von Schafen konnte festgestellt werden, dass die dadurch erhöhte Chloridkonzentration rasch auf das Ausgangsniveau zurückkehrte (53). Diese Chloridabsorption, die nach Parthasarathy und Phillipson (42) bis zu einer minimalen luminalen Chloridkonzentration von 38 mmol/l möglich ist, führten Dobson et al. (6, 8) allein auf das bestehende Potentialgefälle zurück und schlossen einen nennenswerten Beitrag eines aktiven Transportmechanismus aus. Bei niederen Chloridkonzentrationen (<38 mmol/l) im Pansen konnte eine Nettosekretion von Chlorid ins Pansenlumen beobachtet werden (42). Erst mit der von Ussing und Zerahn (58) entwickelten und von Stevens (57) für die Pansenschleimhaut modifizierten Kurzschlussstromtechnik waren exakte Messungen der Elektrolytfluxe möglich, welche zeigten, dass an der kurzgeschlossenen Pansenmukosa sowohl die unidirektionalen Chloridfluxe als auch die Netto-Chloridfluxe deutlich höher als die entsprechenden Natriumfluxe waren (4, 13, 24, 25, 26, 36). Keynes et al. (36) stellten nach Zugabe von Azetazolamid,

einem Carboanhydrase- Hemmer, ins serosa- und mukosaseitige Inkubationsmedium eine Reduktion des Netto-Chloridfluxes fest, wohingegen die Natriumfluxe, der Kurzschlussstrom und das Potential unbeeinflusst blieben. Chien et al. (4) folgerten aus Substitutionsversuchen, in denen Bikarbonat im Inkubationsmedium durch Tricin ersetzt wurde, dass ein in anderen Geweben schon nachgewiesener Chlorid-Bikarbonat Austausch-Mechanismus (1, 14, 37) auch in der Pansenmukosa ablaufen könnte, da bei Fehlen von Bikarbonat (Tricinpuffer) eine deutliche Reduktion des von der von der mucösen zur serösen Seite gerichteten Chloridfluxes auftrat.

Kaliumtransport

Sperber und Hyden (53) stellten bei Experimenten an Ziegen eine Sekretion von K^+ in das Lumen einer "Pansentasche" fest. Durch Markierung des Inkubationsmediums mit ^{42}K gelang es Ferreira et al. (10) einen geringen Nettoflux von Kalium von der serösen zur mukösen Seite der isolierten Pansenmukosa des Schafes nachzuweisen. Nach Keynes (34) ist es jedoch äußerst schwierig, die Kaliumfluxe genau zu bestimmen, da die unidirektionalen Fluxe sehr gering sind und zudem zur Erreichung von steady state-Bedingungen sehr lange Adaptationszeiten (ca. 2 Stunden) nötig sind.

Einfluss von 3',5'-cyclo-Adenosinmonophosphat (cAMP) auf den transepithelialen Natrium- und Chloridtransport

3',5'-Cyclo-Adenosinmonophosphat (cAMP) spielt als "second messenger" für Hormone und auch bestimmte Toxine bei der Regulation der intestinalen Elektrolytsekretion eine wichtige Rolle (14, 43). Substanzen wie z.B. Theophyllin oder Forskolin bewirken eine Erhöhung des zellulären cAMP-Spiegels (2, 41, 43). Theophyllin hemmt die Phosphodiesterase, wohingegen

Forskolin in vielen Geweben die Aktivität der Adenylatcyclase steigert. Diese Substanzen führen am Dünndarm, ebenso wie cAMP selbst oder eines seiner Analoga (z.B. Dibutyryl-cAMP oder 8-Bromo-cAMP), zu einer Erhöhung der transepithelialen Potentialdifferenz (PD) sowie zu einem Anstieg des Kurzschlussstroms (KSS) (14, 43). Fluxmessungen ergaben, dass cAMP in den Kryptenzellen die elektrogene Chloridsekretion stimuliert (14, 31, 64) und in den Villuszellen den gekoppelten NaCl-Transport hemmt (14, 15).

Am Colon von Ratte und Kaninchen bewirkten cAMP, Dibutyryl-cAMP und Theophyllin sowie Forskolin ebenfalls eine starke Erhöhung der PD und des KSS (1, 2, 3, 19). Ferner konnte eine Umkehr der Nettochloridresorption zu einer Nettochloridsekretion beobachtet werden. Diese Änderung des Nettochloridfluxes war vor allem durch eine Hemmung des mukoserösen Fluxes und zusätzlich durch eine Steigerung des seromukösen Fluxes bedingt (1, 3, 16, 19). Experimente am Colon der Ratte ergaben, dass der Nettoflux von Natrium durch cAMP deutlich reduziert wird (2, 3, 16). Am Colon des Kaninchens konnte hingegen kein Einfluss von cAMP auf den Nettotransport von Natrium festgestellt werden und der Anstieg des KSS konnte allein durch die Änderung des Nettochloridfluxes erklärt werden (19). Nach Binder (1) könnte dieser Unterschied durch verschiedene Transportmechanismen bei Ratte und Kaninchen bedingt sein. So wird bei der Ratte angenommen, dass im Colon eine elektrogene Na⁺-Absorption, ein elektroneutraler NaCl-Cotransport, der durch cAMP gehemmt wird, sowie eine Na⁺-unabhängige Chloridabsorption (höchstwahrscheinlich ein elektroneutraler Cl⁻/HCO₃⁻-Austauschmechanismus) vorhanden sind, während im Colon des Kaninchens ein elektroneutraler NaCl-Transport möglicherweise nicht stattfindet (1).

Experimente von Frizzell und Mitarbeitern (18) zeigten, dass in der Gallenblasenschleimhaut des Kaninchens, einem Epithel, welches einen elektroneutralen NaCl-Absorptionsmechanismus besitzt, aber nicht zur

Cl^- -Sekretion befähigt ist, durch cAMP zwar die NaCl- Absorption gehemmt wurde, der KSS aber unbeeinflusst blieb.

Ein Einfluss von cAMP auf den ruminalen Elektrolyttransport wurde bisher noch nicht beschrieben. In der vorliegenden Arbeit wurden daher entsprechende Untersuchungen durchgeführt.

MATERIAL UND METHODE

Versuchstiere

Es wurden männliche und weibliche Lämmer der Rassen weisses Alpenschaf und schwarzbraunes Bergschaf verwendet. Die Tiere wiesen ein Körpergewicht von 18 bis 27 kg auf. Alle Tiere wurden während einer Woche vor Versuchsbeginn mit Heu und Wasser ad libitum gefüttert.

Mukosagewinnung

Die Tiere wurden mit einer intramuskulären Injektion von Xylazin-Hydrochlorid (Bayer, Leverkusen; 1-3 mg/ kg Körpergewicht) und Ketamin-Hydrochlorid (Parke-Davis, München; 2-7 mg/ kg Körpergewicht) narkotisiert. Die Bauchhöhle wurde in der Linea alba geöffnet und vom dorsalen Pansensack (Versuchsreihe A) bzw. vom ventralen Pansensack (Versuchsreihe B) ein Stück der Pansenwand (ca. 150 x 50 mm) entnommen und sofort mit vorgewärmter Pufferlösung (Tab. 1, Seite 18) gespült. Anschliessend wurde die Mukosa in oxygenierter Pufferlösung sorgfältig von den Muskelschichten getrennt.

Diffusionskammer und Inkubationstechnik

Im wesentlichen wurde die von Ussing und Zerahn (58) 1951 für die Messung der Ionenfluxe durch die Froschhaut entwickelte und von Ferreira et al. (10) und Stevens (57) 1964 auch für die isolierte Pansenschleimhaut des Schafes benutzte in vitro- Kurzschlussstromtechnik angewandt.

Die verwendete Diffusionskammer (40) setzt sich aus zwei gleich grossen, quaderförmigen Plexiglasblöcken zusammen, in die je vier Halbzellen gebohrt waren. Nach dem Einspannen der Pansenmukosa entstehen somit 4, jeweils durch das Gewebe getrennte Kanalsysteme (Abb. 2). Zur Einbringung des Inkubationsmediums und der Begasungsschläuche sowie für die Probeentnahme befindet sich über jeder Halbkammer ein Kamin (Abb. 2). Zwei zusätzliche Kamine je Halbkammer dienten als Halterung für die Elektroden. Ausserdem ist das Kammersystem mit Oeffnungen für die Agar-Gel-Brücken versehen. Die zur Einspeisung des Kurzschlussstroms dienenden Agarbrücken befinden sich an den peripheren Enden der Diffusionskammer (Abb. 2). Die zur Messung der transepithelialen Potentialdifferenz vorgesehenen Agarbrücken sind schräg angeordnet, so dass sich die Agarbrückenden in der Mitte des zwischen die zwei Halbkammern eingespannten Mukosastückes befanden. Der Abstand der Agarbrücke von der Mukosa betrug etwa 1 mm. Nach aussen werden die Agarbrücken mit Silikondichtungen abgedichtet. Die Halbzellenöffnungen, die der Diffusionsfläche entsprechen, waren ebenfalls mit Silikondichtungen versehen, so dass beim Einpressen des Epithels zwischen die Halbzellen ein dichter Verschluss entstand.

* = Gemisch aus Agar (5%) und Puffer (95%), heiss in Teflonschläuche aufgezogen

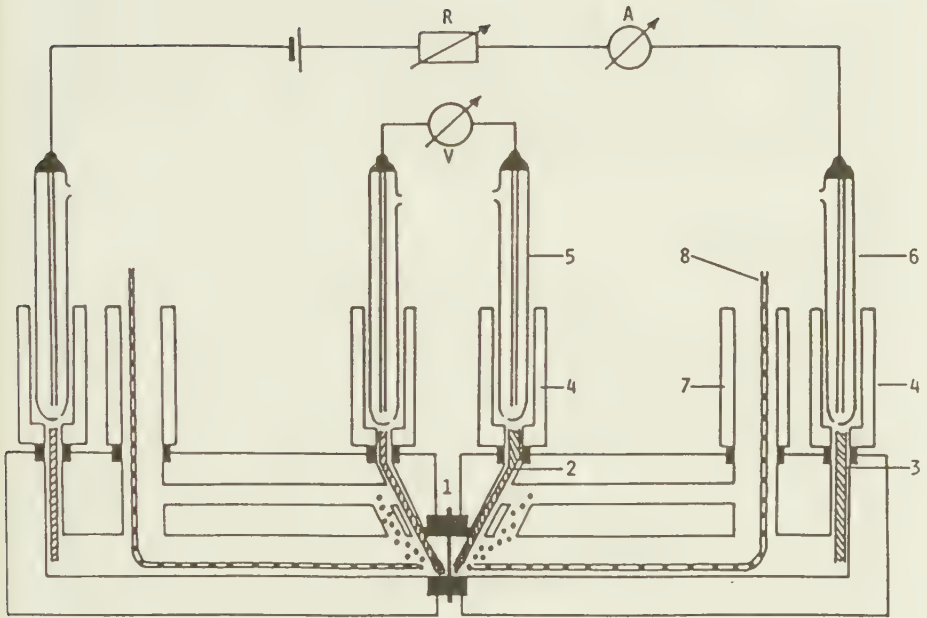


Abb.2 Schematische Darstellung der verwendeten Kammer

- | | |
|---|--------------------------------------|
| 1 EINGESpanNTE PANSENmUKOSA | 4 ELEKTRODENHALTERUNGEN |
| 2 ZUR MESSUNG DER POTENTIALDIFFERENZ
DIENTENDE AGARBRUECKEN | 5 ELEKTRODEN ZUR POTENTIALMESSUNG |
| 3 ZUR EINSPEISUNG DES KURZSCHLUSSTROMES
DIENTENDE AGARBRUECKEN | 6 ELEKTRODEN FÜR DEN KURZSCHLUSSTROM |
| | 7 KAMIN |
| | 8 BEGASUNGSSCHLAEUCHE |

Nach dem Einspannen des Gewebes wurden die Halbzellen mit je 22 ml temperierter (37°C) Pufferlösung gefüllt und sofort mit Karbogen (95% Sauerstoff / 5% Kohlendioxid), welches zuvor in einer Waschflasche mit Wasserdampf gesättigt worden war, begast. Die ganze Kammer wurde in einen aufgeheizten Inkubator gestellt, sodass eine konstante Temperatur des Inkubationsmediums von 37°C gewährleistet war.

Elektrische Messungen

Für die Messung der transepithelialen Potentialdifferenzen (PD) wurden Kalomelelektroden (Typ 303, Fa. Dr. W. Ingold) und zur Einspeisung des Kurzschlussstromes (KSS) Ag / AgCl Elektroden (Typ 373, Fa. Dr. W. Ingold) verwendet. Alle Elektrodenpaare wurden vor Versuchsbeginn für mindestens eine Stunde in den auf 37°C temperierten Puffer eingetaucht und wiesen ein Eigenpotential von weniger als 0,5 mV auf. Zur Messung der PD bzw. zur Einspeisung des KSS befanden sich die Elektroden in den mit je 1 ml Puffer gefüllten Halterungen über den Agarbrücken. Zur Registrierung der PD diente ein Mehrkanalschreiber (Watanabe Multicorder Typ MC 6601). Die Einspeisung des Kurzschlussstroms der über Drehwiderstände geregelt wurde, erfolgte mittels eines Netzgerätes. Die Stärke des erforderlichen KSS wurde von den im Netzgerät eingebauten μ A-Metern abgelesen. Die Stromstärke wurde dabei so eingestellt, dass die zwischen den beiden Seiten der Pansenschleimhaut bestehende PD auf Null reduziert wurde. Alle 30 Minuten wurde der Strom für etwa 30 Sekunden unterbrochen, um das transepitheliale Potential zu messen.

Markierung, Probenentnahme und Radioaktivitätsmessung

Zur Messung der unidirektionalen Fluxe (mukös-serös = ms bzw. serös-mukös = sm) von Natrium beziehungsweise Chlorid wurde das Inkubationsmedium mit ^{22}Na bzw. ^{36}Cl markiert. ^{22}Na (16,8 kB/ml) und ^{36}Cl (16,8 kB/ml) wurde entweder ins seröse oder muköse Inkubationsmedium (jeweils nur eine Seite mit radioaktivem Substrat markiert) nach einer Vorinkubation von 30 Minuten zugesetzt. Die Tracer wurden dabei so auf die 4 Systeme verteilt, dass pro Tier je ein sm- und ein ms- Natrium- und Chloridflux gemessen werden konnte. In einigen Versuchen wurden nur Natriumfluxe gemessen (je 2 ms- und sm- Fluxe). 30 Minuten nach Zugabe der Tracer wurde aus allen 8 Halbzellen eine Probe (je 0,5 ml) entnommen, die sofort durch das gleiche Volumen unmarkierte Pufferlösung ersetzt wurde. Weitere Proben wurden wie beschrieben in 30 Minuten -Intervallen aus den jeweils bei Versuchsbeginn nicht markierten Halbzellen entnommen. Nach 90 Minuten wurden aus dem auf der serösen Seite des Pansenepithels sich befindlichen Medium (=seröses Medium) je 5 ml entnommen und 39,6 mg Theophyllin darin gelöst. Nach dem Wiedereinfüllen dieser Lösung ergab sich im serösen Medium eine Endkonzentration von 10 mmol/l Theophyllin. Bei der Zugabe von Mannit (=Kontrolle) wurde analog verfahren. Etwa 15 Minuten später erfolgte wiederum eine Probeentnahme aus den zu Versuchsbeginn nicht markierten Halbzellen. In Abständen von 30 Minuten wurden anschliessend 3 weitere Proben entnommen. Danach wurde das Medium auf der serösen Seite der Pansenschleimhaut in allen Halbzellen mittels einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt und durch neuen Puffer ersetzt (=Spülung). Das seröse Medium der beiden für die Messung der sm-Fluxe dienenden Einheiten wurde nochmals mit ^{22}Na bzw. ^{36}Cl markiert. Fünfzehn Minuten nach dem Ausspülen wurden erneut Proben aus den soeben markierten und allen zu Versuchsbeginn unmarkierten Halbzellen entnommen. Nach weiteren

zwei Probeentnahmen in Abständen von 30 Minuten aus den zu Beginn unmarkierten Kanälen wurden die Versuche jeweils beendet. Die Messung der Radioaktivität in den mit ^{36}Cl markierten Proben erfolgte nach Zusatz von 10 ml Szintillationsflüssigkeit (Supertron, Kontron, Zürich) in einem Flüssigkeitsszintillationszähler (Kontron Liquid Scintillation Counter, Betamatic I). Die Radioaktivitätsmessung der Proben, welche ^{22}Na enthielten, erfolgte mittels eines Gammazählers (Kontron Gamma Counting System, Gammamatic I).

Berechnung der Ergebnisse

Zur Berechnung der unidirektionalen Fluxe wurde folgende Formel benutzt:

$$UF = \frac{M \cdot R_1}{R_2 \cdot A}$$

UF = unidirektionaler Flux ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$)

M = in einer Halbzelle vorhandene Menge des betreffenden Ions (μmol)

R_1 = Radioaktivität (lpm/0,5 ml) der bei Versuchsbeginn unmarkierten
Kammerflüssigkeit

R_2 = Radioaktivität (lpm/0,5ml) der bei Versuchsbeginn markierten
Kammerflüssigkeit

A = Diffusionsfläche (2cm^2)

Die Nettofluxe wurden aus der Differenz der unidirektionalen Fluxe errechnet, indem der seromuköse Flux (sm) vom mukoserösen Flux (ms) subtrahiert wurde.

Das Ionenaequivalent des Kurzschlussstroms wurde mit folgender Formel ermittelt:

$$KSS = \frac{I \cdot 3600}{F \cdot A}$$

KSS = Ionenaequivalent des Kurzschlussstroms ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$)

I = Kurzschlussstrom (μA)

F = Faraday'sche Konstante = 96494 Coulomb

A = Diffusionsfläche (cm^2)

Statistik

Alle Ergebnisse sind, wenn nicht anders angegeben, als Mittelwerte $\pm$ Standardfehler angegeben ($\bar{x} \pm \text{SEM}$). Bei der Berechnung dieser Grössen wurde von der Anzahl der Tiere ausgegangen. Die Anzahl der Präparationen ist bei den Ergebnissen jeweils aufgeführt. Die statistische Auswertung der Gruppenunterschiede erfolgte mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen (44).

Tabelle 1: Zusammensetzung des Inkubationsmediums

NaCl	90 mmol/l
Na-Azetat	15 mmol/l
Na-Propionat	10 mmol/l
Na-Butyrat	10 mmol/l
NaHCO ₃	25 mmol/l
Na ₂ HPO ₄	2 mmol/l
KCl	5 mmol/l
MgCl ₂	2 mmol/l
CaCl ₂	2 mmol/l
Glukose	10 mmol/l

NaHCO₃⁻ wurde als konzentrierte Stammlösung, die vor dem Mischen des Puffers während einer Stunde mit CO₂ begast wurde, zugegeben.

Der Puffer wurde vor Gebrauch mit Karbogen (95% O₂/5% CO₂) begast und auf pH 7.4 eingestellt.

ERGEBNISSE

Versuchsreihe A

In dieser Versuchsreihe wurde der Einfluss von Theophyllin, welches durch Hemmung der Phosphodiesterase den cAMP- Spiegel in der Zelle erhöht, auf die elektrophysiologischen Parameter der isolierten Mucosa des ventralen Pansensacks von Schafen untersucht. Ferner wurden die unidirektionalen Fluxe von Natrium und Chlorid durch die kurzgeschlossene Schleimhaut unter analogen Bedingungen gemessen.

a) Elektrophysiologische Parameter

Die am Ende der Vorinkubation (=Zeitpunkt 0 in Abb. 3) bei $6.9. \pm 1.2$ mV liegende elektrische PD (PD_0) sank bis zur 90. Minute kontinuierlich auf $6,2 \pm 0,8$ mV (PD_{90}) (Abb. 3) ab. Nach Theophyllinzugabe (Theophyllinkonzentration: 10 mmol/l) zum serösen Medium erfolgte ein signifikanter Abfall ($p < 0.05$) der PD, die innerhalb von 15 Minuten den Wert von $4,7 \pm 0,7$ mV (PD_{105}) erreichte. Dieser Wert blieb in Gegenwart von Theophyllin weitgehend konstant ($PD_{195} = 4,2 \pm 0,6$ mV, Abb 3). Nachdem das Theophyllin-haltige seröse Medium durch frischen Puffer ersetzt worden war (=Spülung), fand ein deutlicher Anstieg der PD auf $5,4 \pm 0,8$ mV (= PD_{210}) statt. Danach sank die PD kontinuierlich und erreichte nach 300 Minuten den Wert von $4,3 \pm 0,6$ mV (Abb. 3). In den Kontrollversuchen, bei denen anstelle von Theopyllin Mannit in gleicher Konzentration dem serösen Medium zugesetzt wurde, stieg die PD während der ersten 90 Minuten von $5,6 \pm 1,7$ mV (PD_0) auf $6,0 \pm 1,2$ mV (PD_{90} , Abb. 4). Die Zugabe von Mannit führte im Gegensatz zu Theophyllin zu keinem Absinken der PD (Abb. 4).

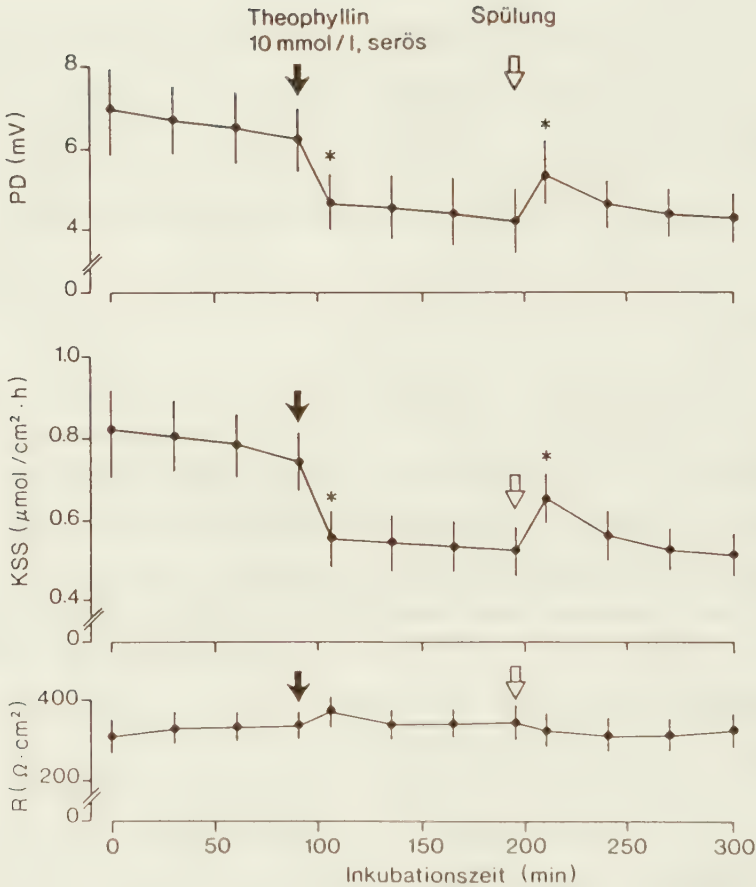


Abb. 3 Einfluss von Theophyllin auf die Potentialdifferenz, den Kurzschlussstrom und den Gewebswiderstand der isolierten Schleimhaut des ventralen Pansensacks von Schafen.

Mittelwert $\pm$ Standardfehler ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) von 9 Tieren (25 Präparationen)

* signifikanter Abfall bzw. Wiederanstieg der PD und des KSS ($p < 0.05$) nach Zugabe bzw. Ausspülen von Theophyllin

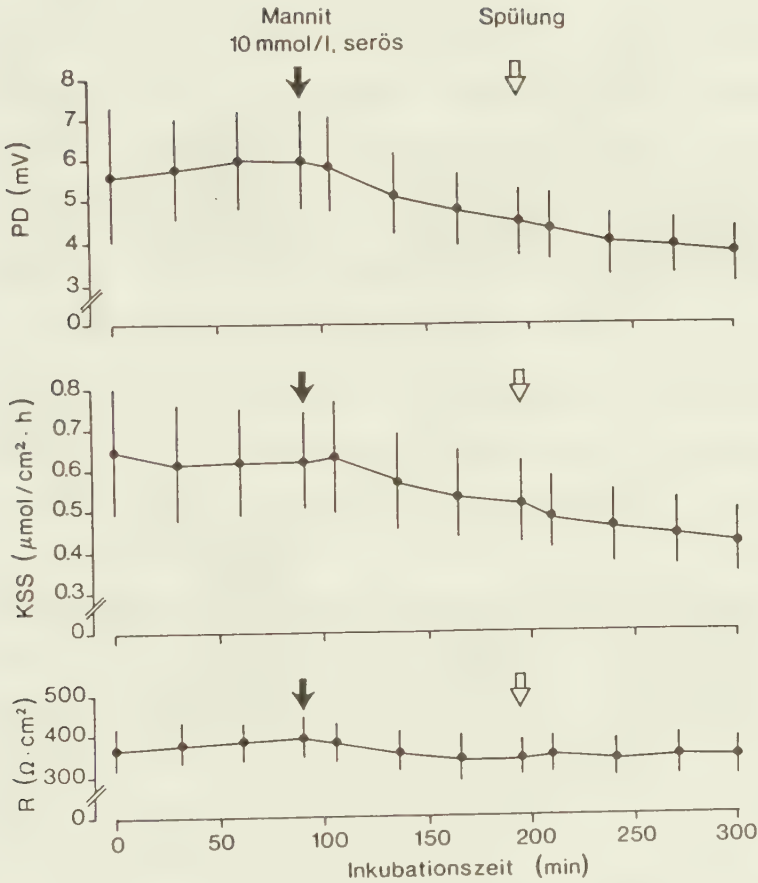


Abb. 4 Einfluss von Mannit auf die Potentialdifferenz, den Kurzschlussstrom und den Gewebswiderstand der isolierten Schleimhaut des ventralen Pansensacks von Schafen.

Mittelwert $\pm$ Standardfehler ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) von 5 Tieren (9 Präparationen)

Der KSS sank bis zur 90. Minute von $0,82 \pm 0,1 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ auf $0,74 \pm 0,07 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ ab. Die Theophyllinzugabe bewirkte einen raschen signifikanten Abfall ($p < 0.05$) des KSS ($\text{KSS}_{105} = 0,55 \pm 0,07 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$, Abb 3). Bis zur 195. Minute fiel der KSS nur leicht ab und erreichte einen Wert von $0,52 \pm 0,06 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$. Die Entfernung des Theophyllins aus den auf der serösen Seite des Epithels gelegenen Halbzellen bewirkte einen signifikanten Wiederanstieg ($p < 0.05$) des KSS auf $0.65 \pm 0,06 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ (Abb. 3). Danach sank der KSS bis zur 300. Minute auf $0.51 \pm 0.05 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ ab. In den Kontrollversuchen sank der KSS nach einer stabilen Phase bis zur 105. Minute ($\text{KSS}_0 = 0.65 \pm 0.16 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$; $\text{KSS}_{105} = 0.63 \pm 0.13 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$) kontinuierlich und betrug in der 300. Minute noch $0.42 \pm 0.08 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ (Abb. 4). Berechnet man zum Vergleich mit den auf 1h bezogenen Netto-Fluxen Durchschnittsstundenwerte des KSS in den Phasen vor der Theophyllinzugabe (1), während der Theophyllinexposition (2) und nach Entfernung desselben aus dem Inkubationsmedium (3), so ergibt sich nur zwischen den Phasen 1 und 2 eine signifikante Veränderung (Abb. 7).

Der Gewebswiderstand blieb bei den Versuchen mit Theophyllin ($R_0 = 313 \pm 42 \Omega \cdot \text{cm}^2$; $R_{135} = 349 \pm 34 \Omega \cdot \text{cm}^2$; $R_{300} = 315 \pm 27 \Omega \cdot \text{cm}^2$, Abb. 3), und bei den Kontrollversuchen ($R_0 = 369 \pm 57 \Omega \cdot \text{cm}^2$; $R_{135} = 353 \pm 54 \Omega \cdot \text{cm}^2$; $R_{300} = 337 \pm 51 \Omega \cdot \text{cm}^2$, Abb. 4). relativ konstant. Die Zugabe von Theophyllin ergab somit keinen Effekt auf den Gewebswiderstand.

b) Natrium- und Chloridtransport

Die unidirektionalen Fluxe von Na^+ und Cl^- wurden nach einer Vorinkubation von 60 Minuten (=Zeitpunkt 0 in Abb. 3 und 4) gemessen, wobei sowohl für Na^+ als auch Cl^- die Werte für den ms -Flux deutlich höher als jene für den sm -Flux waren (Abb. 5). Damit ergab sich für Na^+ und Cl^- ein

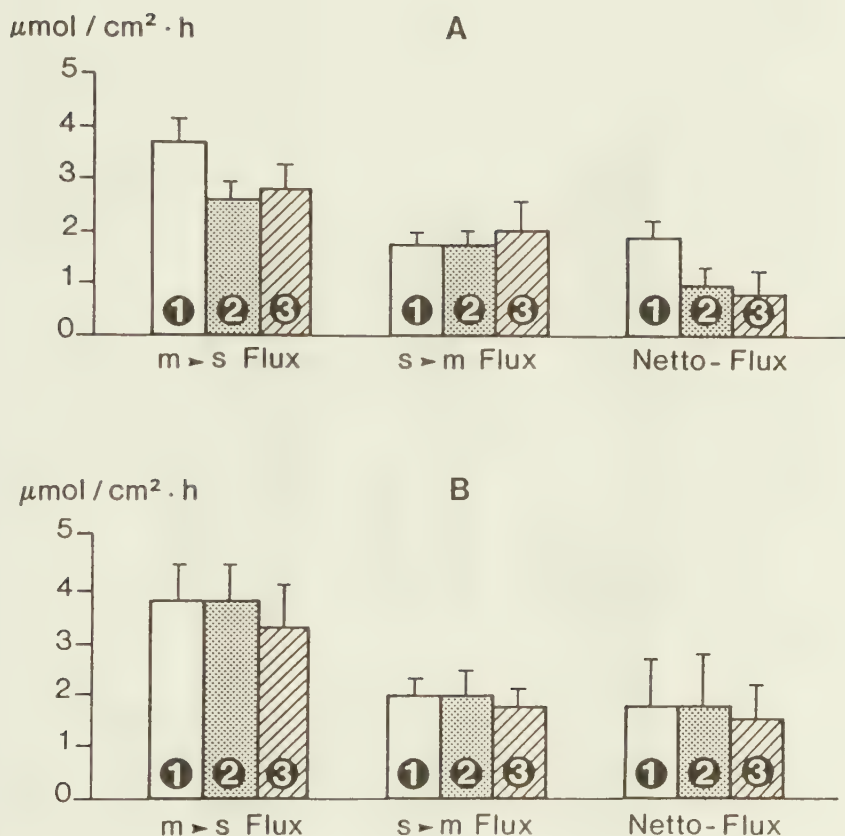


Abb. 5 Einfluss von Theophyllin auf die (A) Natrium- bzw. (B) Chlorid-Fluxe durch die isolierte, kurzgeschlossene Schleimhaut des ventralen Pansensacks von Schafen.

Mittelwert $\pm$ Standardfehler ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) von
 (A) 9 Tieren (22 Präparationen) bzw.
 (B) 5 Tieren (8 Präparationen)

1 = unbehandelt

2 = nach seröser Zugabe von 10 mmol/l Theophyllin

3 = nach Spülung

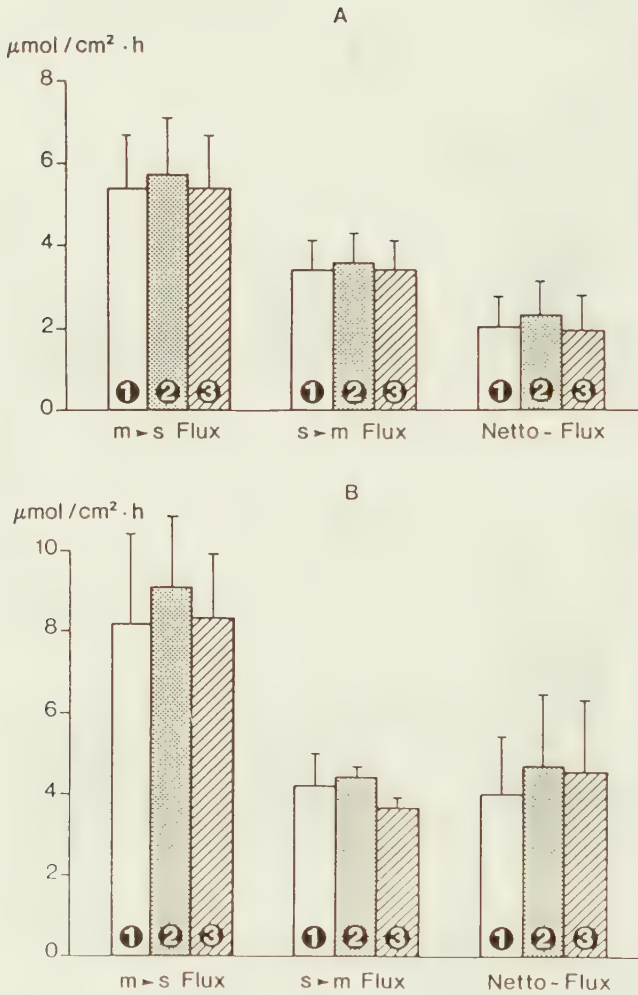


Abb. 6 Einfluss von Mannit auf die (A) Natrium- bzw. (B) Chlorid-Fluxe durch die isolierte, kurzgeschlossene Schleimhaut des ventralen Pansensacks von Schafen.

Mittelwert $\pm$ Standardfehler ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) von
(A) 5 Tieren (9 Präparationen)
(B) 2 Tieren (4 Präparationen)

- 1 = unbehandelt
- 2 = nach seröser Zugabe von 10 mmol/l Mannit
- 3 = nach Spülung

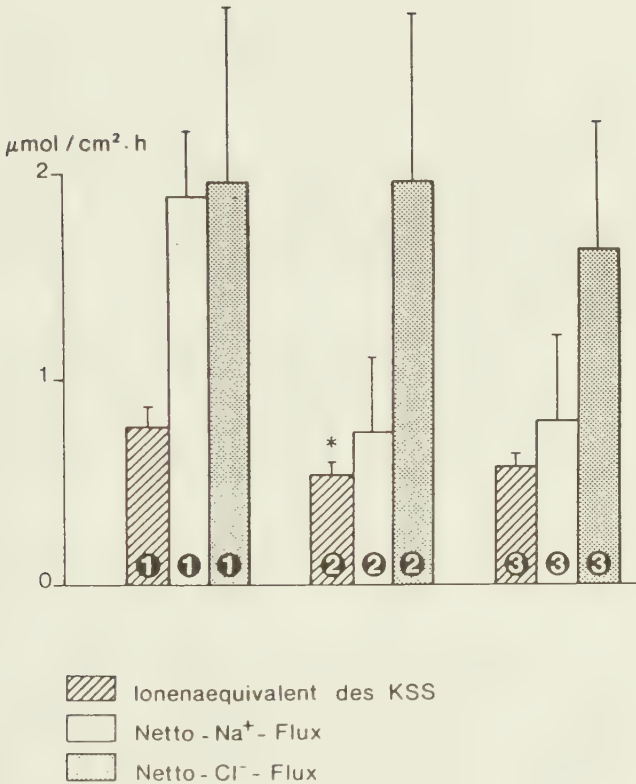


Abb. 7 Einfluss von Theophyllin auf den Kurzschlussstrom, den Netto-Natrium- und den Netto-Chloridtransport der isolierten Schleimhaut des ventralen Pansensacks von Schafen.

Mittelwert $\pm$ Standardfehler ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) von 9 Tieren (KSS: 26 Präparationen, Netto-Na⁺-Transport: 22 Präparationen) bzw. von 5 Tieren (Netto-Cl⁻-Transport: 8 Präparationen)
* signifikanter Abfall des KSS ($p < 0.01$) nach Zugabe von Theophyllin

- 1 = unbehandelt
- 2 = nach seröser Zugabe von 10 mmol/l Theophyllin
- 3 = nach Spülung

Nettoflux vom mukösen ins seröse Medium. Der Netto-Chloridflux war in diesen Versuchen nur unwesentlich höher als der Netto-Natriumflux (s. Abb. 5). In der auf die Theophyllinzugabe folgenden Messperiode war der ms-Na^+ -Flux und der Netto-Natriumflux deutlich reduziert (Abb. 5). Sowohl die unidirektionalen Cl^- -Fluxe als auch die Netto-Chloridfluxe blieben nach Theophyllinzugabe weitgehend unbeeinflusst (Abb. 5). In einigen Kontrollversuchen wurde anstelle von Theophyllin Mannit zugegeben (10 mmol/l, serös in der 90. Minute). Dabei zeigten sich weder für die Na^+ -Fluxe noch für die Cl^- -Fluxe Unterschiede zwischen der ersten und zweiten Messphase (Abb. 6).

Nach dem Ersatz des Theophyllin- bzw. Mannit -haltigen Mediums durch Theophyllin- bzw. Mannit -freies Medium ergab sich im Vergleich zu den in Gegenwart von Theophyllin oder Mannit gemessenen Fluxen keine wesentliche Veränderung der Na^+ - und Cl^- -Fluxe (Abb. 5 und 6).

Versuchsreihe B

In einigen zusätzlichen Versuchen wurde zum Vergleich mit den an der Mukosa des ventralen Pansensacks erhaltenen Resultaten (Versuchsreihe A) die elektrophysiologischen Parameter der isolierten Mukosa des dorsalen Pansensacks von Schafen gemessen. Ferner wurden die unidirektionalen Fluxe von Natrium und Chlorid durch die kurzgeschlossene Schleimhaut bestimmt.

a) Elektrophysiologische Parameter

Die Potentialdifferenz (PD) betrug nach einer Vorinkubation von 60 Minuten (in der Abb. 8 nicht dargestellt) 9.2 ± 0.2 mV. Nach weiteren 60 Minuten lag der betreffende Wert bei 8.2 ± 0.2 mV und sank dann bis zur 90.

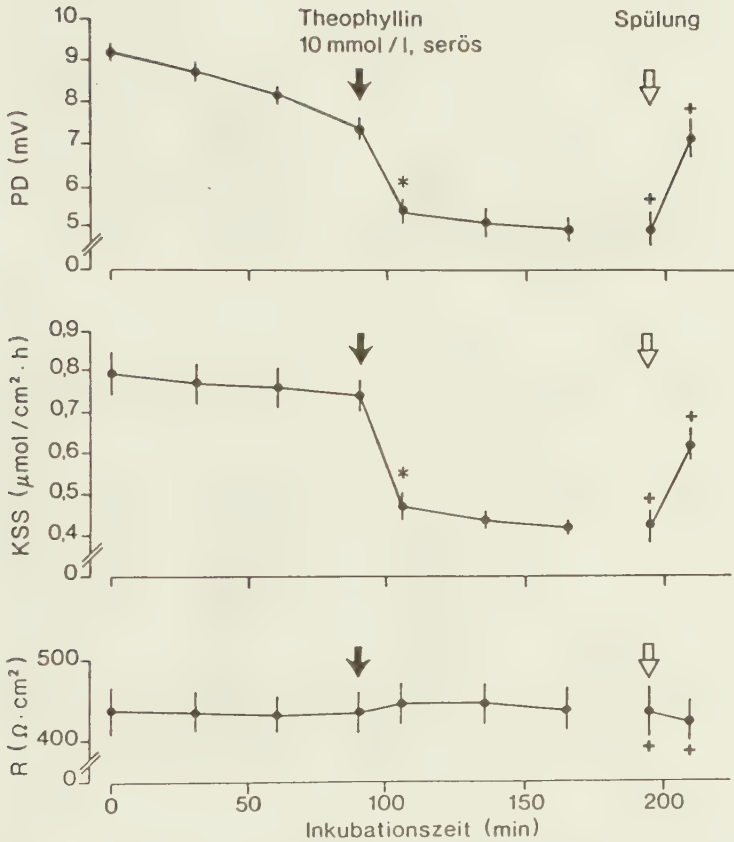


Abb. 8 Einfluss von Theophyllin auf die Potentialdifferenz, den Kurzschlussstrom und den Gewebswiderstand der isolierten Schleimhaut des dorsalen Pansensacks von Schafen

Mittelwert $\pm$ Standardfehler ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) von 7 Tieren (26 Präparationen)

* Mittelwerte von 2 Tieren (8 Präparationen) nach Ersatz des theophyllinhaltigen Mediums durch frischen Pansenpuffer

* signifikanter Abfall der PD und des KSS ($p < 0.05$) nach Zugabe von Theophyllin

Minute auf 7.4 ± 0.2 mV ab (Abb. 8) Nach Theophyllinzugabe erfolgte innerhalb von 15 Minuten ein deutliches Absinken der PD auf 5.4 ± 0.3 mV. Dieser Wert blieb dann im weiteren Verlauf stabil ($PD_{135} = 5.2 \pm 0.3$ mV). Bei 8 Präparationen von 2 Tieren wurde 105 Minuten nach Theophyllin-Zugabe das Theophyllin -haltige Medium durch Theophyllin -freies Medium ersetzt, was zu einem deutlichen Wiederanstieg der PD von 5.0 ± 0.4 mV (PD_{195}) auf 7.2 ± 0.5 mV (PD_{210}) führte (Abb. 8). Zur Kontrolle wurde bei 4 Präparationen von 2 Tieren Mannit in gleicher Weise wie Theophyllin zugefügt, was keine Änderung der PD zur Folge hatte ($PD_{90} = 12.7 \pm 1.7$ mV; $PD_{105} = 12.6 \pm 1.6$ mV; $PD_{210} = 11.2 \pm 1.8$ mV).

Der KSS verhielt sich ähnlich wie die transepitheliale PD. Nach leichtem Absinken bis zur 90. Minute ($KSS_0 = 0.79 \pm 0.05$ $\mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$; $KSS_{90} = 0.69 \pm 0.04$ $\mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$) erfolgte nach Theophyllinzugabe innerhalb von 15 Minuten ein deutlicher Abfall auf 0.47 ± 0.03 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ (Abb. 8). Dieser Wert blieb während der folgenden Stunde weitgehend konstant ($KSS_{135} = 0.44 \pm 0.02$ $\mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$). Bei den Präparationen, in denen 105 Minuten nach Theophyllin- Zugabe ein Austausch des Theophyllin -haltigen Mediums durch Theophyllin -freies Medium durchgeführt wurde, stieg der KSS innerhalb von 15 Minuten deutlich an ($KSS_{195} = 0.42 \pm 0.04$ $\mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$; $KSS_{210} = 0.62 \pm 0.04$ $\mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$, Abb. 8) In den Kontrollexperimenten, in denen Mannit anstelle von Theophyllin zugegeben wurde, blieb der KSS weitgehend konstant ($KSS_{90} = 0.80 \pm 0.10$ $\mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$; $KSS_{105} = 0.77 \pm 0.04$ $\mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$; $KSS_{210} = 0.68 \pm 0.07$ $\mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$).

Der Gewebswiderstand veränderte sich während der gesamten Versuchsdauer in allen Experimenten nur unwesentlich ($R_0 = 438 \pm 25$ $\Omega \cdot \text{cm}^2$; $R_{135} = 445 \pm 26$ $\Omega \cdot \text{cm}^2$, Abb. 8).

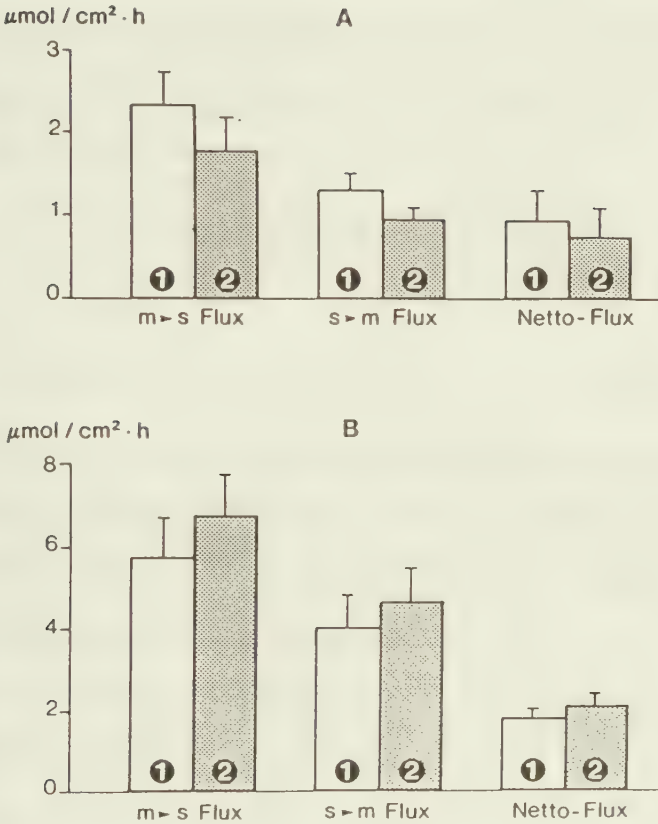


Abb. 9 Einfluss von Theophyllin auf die Natriumfluxe (A) und die Chloridfluxe (B) durch die isolierte, kurzgeschlossene Schleimhaut des dorsalen Pansensacks von Schafen.

Mittelwert $\pm$ Standardfehler ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) von
(A) 4 Tieren (15 Präparationen) bzw.
(B) 3 Tieren (12 Präparationen)

1 = unbehandelt

2 = nach Zugabe von 10 mmol/l Theophyllin in das seröse Medium

b) Natrium- und Chloridtransport

Die unidirektionalen Flüsse von Natrium und Chlorid wurden nach einer Vorinkubation von 60 Minuten gemessen. Sowohl für Na^+ als auch für Cl^- wurden deutlich höhere ms-Fluxe als sm-Fluxe gemessen, woraus ein Netto- Na^+ - und Cl^- -Flux vom mukösen ins seröse Medium resultiert. Der unidirektionale Cl^- -Flux sowie der Netto-Chlorid-Flux waren dabei mindestens doppelt so hoch wie die entsprechenden Na^+ -Fluxe (Abb. 9). In Gegenwart von Theophyllin ergab sich keine signifikante Veränderung der Na^+ - und Cl^- -Fluxe (Abb. 9 A/ 9 B).

"Paradoxe Potentiale"

In zwei Versuchen an der isolierten Schleimhaut des ventralen Pansensacks wurde zu Versuchsbeginn eine negative Potentialdifferenz gemessen. In diesen Versuchen war somit die Serosaseite des Epithels gegenüber der Lumen-seite negativ geladen. Nach der Vorinkubation betrugen die Werte -5.2 mV (N1, Abb. 10) bzw. -5.6 mV (N2) und stiegen nach weiteren 90 Minuten auf -4.1 mV (N1) bzw. -2.7 mV (N2). Nach Zugabe von Theophyllin erniedrigte sich die elektrische PD in den folgenden 15 Minuten auf -6.7 mV (N1, Abb. 10) bzw. -4.2 mV (N2). Während bei Versuch N1 die PD in Gegenwart von Theophyllin weitgehend stabil blieb ($\text{PD}_{195} = -6.2 \text{ mV}$) stieg die PD bei Versuch N2 bis zur 195. Minute auf einen Wert von -2.4 mV. Auf das Ausspülen der serösen Kanäle folgte eine deutliche Zunahme der PD ($\text{PD}_{210} = -3.2 \text{ mV}$ (N1, Abb. 10) bzw. $\text{PD}_{210} = -0.2 \text{ mV}$ (N2)).

Der KSS verhielt sich gleichsinnig wie die PD. Die am Anfang der Messperiode erhaltenen Werte ($\text{KSS}_0 = -0.40 \text{ } \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ (N1, Abb. 10) bzw. $\text{KSS}_0 = -0.48 \text{ } \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ (N2)) erhöhten sich bis zur 90. Minute auf -0.31 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ (N1) bzw. -0.30 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ (N2). Nach Theophyllinzugabe war

eine rasche Abnahme des KSS zu beobachten ($KSS_{105} = -0.39 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ (N1) bzw. $KSS_{105} = -0.44 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ (N2)). Bei Versuch N1 folgte nun eine stabile Phase ($KSS_{195} = -0.37 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$), bei N2 hingegen stieg der KSS kontinuierlich ($KSS_{195} = -0.20 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$). Das Ausspülen der serösen Kanäle bewirkte bei beiden Versuchen eine deutliche Erhöhung des KSS ($KSS_{210} = -0.22 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ (N1, Abb. 10) bzw. $KSS_{210} = -0.02 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ (N2)).

Der Gewebswiderstand stieg bei beiden Versuchen leicht an ($R_0 = 504 \Omega \cdot \text{cm}^2$ (N1) bzw. $R_0 = 407 \Omega \cdot \text{cm}^2$ (N2), $R_{300} = 625 \Omega \cdot \text{cm}^2$ (N1, Abb. 10) bzw. $442 \Omega \cdot \text{cm}^2$ (N2)).

Bei den Kontrollpräparationen, bei denen in der 90. Minute in das seröse Medium Mannit (10 mmol/l) zugegeben wurde, erhöhten sich die PD und der KSS kontinuierlich, während der Gewebswiderstand bis Versuchsende leicht anstieg (Abb. 11). Bei Versuch N1 blieben PD und KSS über die gesamte Messzeit negativ (Abb. 11). Dagegen ergaben sich in Versuch N2 ab der 105. Minute positive Werte, die bis Versuchsende noch weiter anstiegen ($PD_{300} = 2.4 \text{ mV}$, $KSS_{300} = 0.2 \mu\text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$).

Die unidirektionalen und Netto-Fluxe von Na^+ und Cl^- waren in Bezug auf Richtung und Grösse ähnlich wie jene der Versuche mit "normalem" Potential.

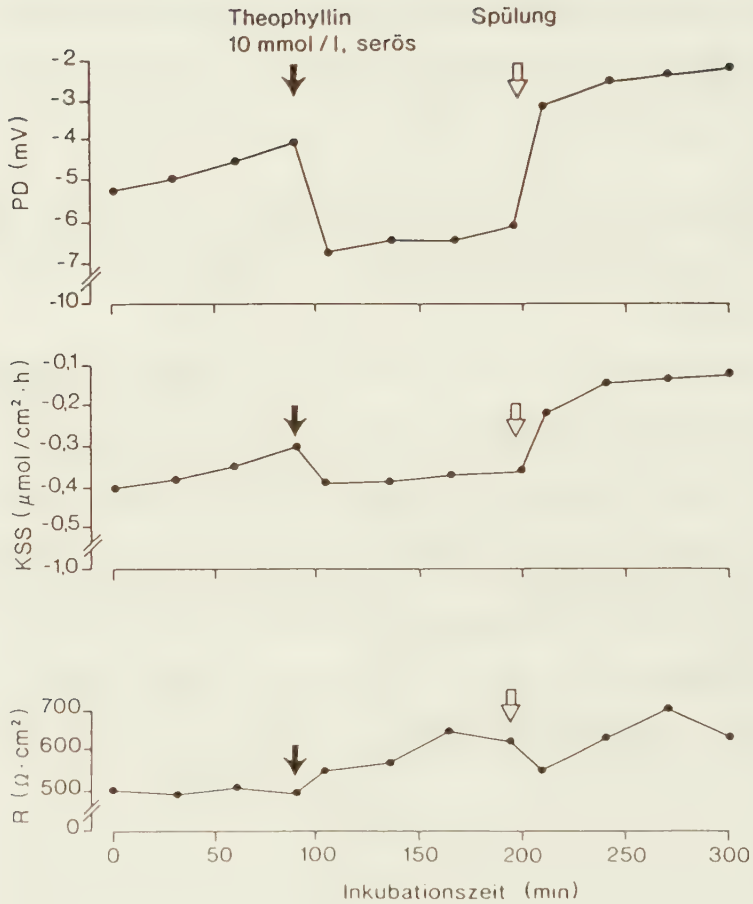


Abb. 10 Einfluss von Theophyllin auf die Potentialdifferenz, den Kurzschlussstrom und den Gewebswiderstand der isolierten Schleimhaut des ventralen Pansensacks von Schafen (Beispiel eines Versuchs (N1) mit negativer Potentialdifferenz)

Mittelwert ($\bar{x}$) aus 2 Präparationen

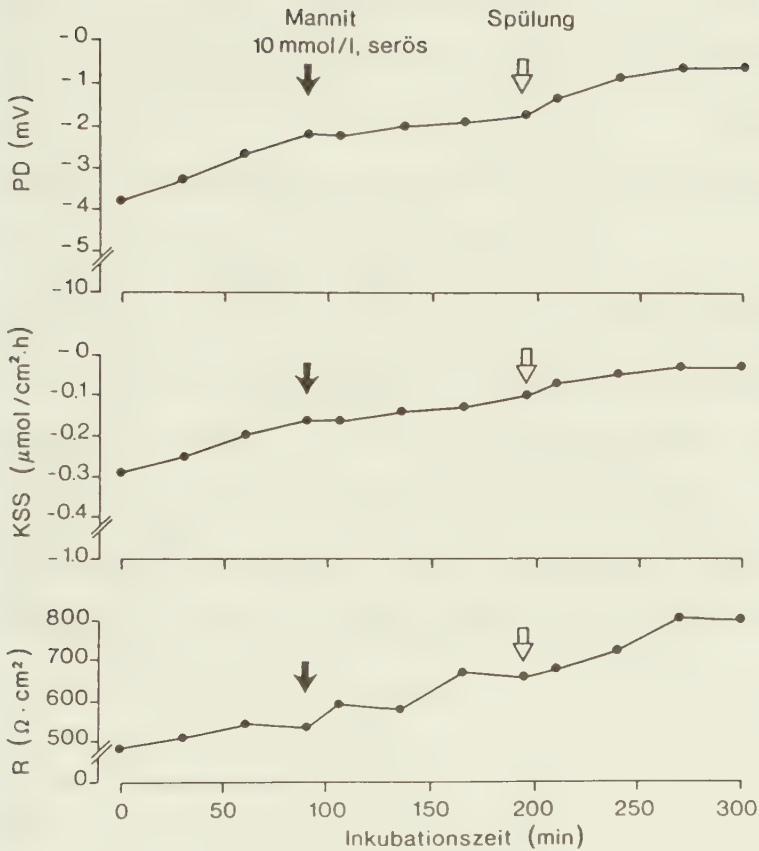


Abb. 11 Einfluss von Mannit auf die Potentialdifferenz, den Kurzschlussstrom und den Gewebswiderstand der isolierten Schleimhaut des ventralen Pansensacks von Schafen (Beispiel eines Versuchs (N1) mit negativer Potentialdifferenz)

Mittelwert ($\bar{x}$) aus 2 Präparationen

Weitere Ergebnisse

Da der Effekt von Theophyllin auf den Elektrolyttransport des Dünndarms und Dickdarms einer Erhöhung des intrazellulären cAMP-Spiegels zugeschrieben wird (1, 2, 14) wurden weitere Experimente mit 3',5'-cAMP durchgeführt.

An der isolierten, kurzgeschlossenen Schleimhaut des dorsalen Pansensackes von Schafen konnte nach Zugabe von 3',5'-cAMP in das seröse Medium in Konzentrationen von 50 $\mu\text{mol/l}$ und 100 $\mu\text{mol/l}$ keine deutliche Senkung von PD und KSS festgestellt werden. Bei einer Konzentration von 1 mmol/l (a) bzw. 4 mmol/l (b) sank die PD in je 2 Versuchen von 11.1 mV (a) bzw. 9.8 mV (b) innert 15 Minuten nach 3',5'-cAMP-Zugabe auf 9.6 mV (a) bzw. 7.3 mV (b) ab. Der KSS reduzierte sich gleichzeitig von 0.77 $\mu\text{mol/cm}^2\cdot\text{h}$ (a) bzw. 0.70 $\mu\text{mol/cm}^2\cdot\text{h}$ (b) auf 0.69 $\mu\text{mol/cm}^2\cdot\text{h}$ (a) bzw. 0.55 $\mu\text{mol/cm}^2\cdot\text{h}$ (b). Der Gewebswiderstand blieb bei diesen Versuchen annähernd konstant. Der Ersatz des cAMP-haltigen Mediums durch cAMP-freies Medium führte ebenso wie bei den Versuchen mit Theophyllin zu einem kurzfristigen Wiederanstieg von PD und KSS.

DISKUSSION

Ziel dieser Arbeit war es, zu prüfen, ob der ruminale Elektrolyttransport, ähnlich wie der intestinale Elektrolyttransport, einer Regulation unterliegt. Dazu verwendeten wir die isolierte Mukosa des ventralen bzw. dorsalen Pansensacks von Schafen, welche zur Messung der elektrophysiologischen Parameter und der transepithelialen Na^+ - bzw. Cl^- -Fluxe in eine modifizierte Ussing-Kammer eingespannt wurde.

Wie schon in anderen Untersuchungen (4, 12, 34, 39) war auch bei unseren Experimenten die Serosaseite des Epithels gegenüber der mukösen Seite im allgemeinen positiv geladen. In einigen Präparationen bestand jedoch von Versuchsbeginn an ein "paradoxes Potential" über das Epithel hinweg, d.h. die muköse Seite war gegenüber der serösen Seite positiv geladen. Solche "paradoxen Potentiale" wurden auch von Scharrer et al. (45) und Stevens (57) gemessen. Harrison et al. (26) führten die in ihren Versuchen nach Zugabe von Ouabain aufgetretene "umgekehrte Potentialdifferenz" auf eine durch Ouabain nicht hemmbare Nettosekretion von K^+ zurück und postulierten im Pansenepithel zwei verschiedene Transportprozesse für Kalium. Sie nahmen aufgrund ihrer Resultate an, dass der größere Teil des Kaliums durch eine ouabainsensitive Na^+/K^+ -Pumpe, der verbleibende Teil jedoch durch eine zusätzliche, elektrogene Kaliumpumpe, wie sie schon von Keynes (34) postuliert wurde, transportiert wird. Wenn eine solche elektrogene Kaliumsekretion die elektrogene Natriumabsorption, die für das Zustandekommen der "normalen" Potentialdifferenz weitgehend verantwortlich zu sein scheint (26) übersteigt, würde ein "paradoxes Potential" auftreten. Eine weitere Möglichkeit für das Zustandekommen einer paradoxen Potentialdifferenz wäre eine elektrogene Cl^- -Absorption durch einen $\text{Na}^+/\text{K}^+ / 2\text{Cl}^-$ -Cotransport. Ein solcher Mechanismus existiert im dicken

aufsteigenden Ast der Henle'schen Schleife (21). Er ist elektrogen, weil das über diesen Mechanismus von der Lumenseite her ins Epithel aufgenommene K^+ durch K^+ -Kanäle wieder zurückdiffundiert.

Wie schon andere Autoren (4, 13, 25, 39) konnten auch wir sowohl für Na^+ als auch für Cl^- einen Nettotransport durch die kurzgeschlossene Pansenschleimhaut in mukoseröser Richtung feststellen. Dabei ergab sich eine Diskrepanz zwischen den Nettofluxen von Natrium und Chlorid und dem Ionenaquivalent des Kurzschlussstroms. Insbesondere war der Nettotransport von Natrium deutlich grösser als der zur Aufhebung der bestehenden Potentialdifferenz benötigte Kurzschlussstrom. Ähnliche Ergebnisse wurden schon in vorhergehenden Untersuchungen (4, 13, 25, 36) erzielt, woraus Chien et al. (4) schlossen, dass neben einem elektrogenen Na^+ -Transport noch andere Natriumtransportmechanismen existieren müssen. Dabei wurden ein $NaCl$ -Cotransport oder ein mit einem Cl^-/HCO_3^- -Austauscher gekoppelter Na^+/H^+ -Austauschmechanismus diskutiert (4). Untersuchungen von Würmli et al. (65) weisen auf eine wesentliche Beteiligung eines Cl^-/HCO_3^- -Austauschmechanismus am Chloridtransport durch die Pansenschleimhaut hin.

Da der Transport von Natrium, Chlorid und Kalium am Dünndarm und Colon verschiedener Spezies durch den intrazellulären Spiegel von 3',5'-cycloAMP (cAMP) beeinflusst wird (1, 14, 43), untersuchten wir den Einfluss von Theophyllin, einem zur Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration führenden Phosphodiesterasehemmer, auf die elektrophysiologischen Parameter der isolierten Pansenschleimhaut sowie den Na^+ - und Cl^- -Transport durch die isolierte Pansenschleimhaut von Schafen. Dabei wurde in Gegenwart von Theophyllin (Zugabe in das seröse Medium) eine signifikante Abnahme der Potentialdifferenz und des Kurzschlussstromes sowie eine, statistisch allerdings nicht signifikante, Reduktion des ms-

Natriumfluxes bei unverändertem sm- Natriumflux festgestellt. Im Gegensatz zu der sich dadurch ergebenden Reduktion des Nettonatriumfluxes zeigten sowohl die unidirektionalen wie auch der Nettoflux von Chlorid nach Zugabe von Theophyllin keine wesentliche Veränderung. In weiteren Versuchen wurde der Einfluss von 3',5'-cAMP auf die elektrophysiologischen Parameter der isolierten Pansenschleimhaut geprüft. Dabei führte 3',5'-cAMP in hohen Konzentrationen (1 mmol/l und 4 mmol/l) zu ähnlichen Effekten wie Theophyllin.

Die Veränderungen der elektrophysiologischen Parameter durch Theophyllin am Pansenepithel stehen im Gegensatz zu der am Dünndarm- bzw. Colonepithel durch cAMP hervorgerufenen Erhöhung von PD und KSS (1, 2, 3, 14, 16, 19, 43). In diesen Geweben konnten die durch cAMP ausgelösten Veränderungen der elektrophysiologischen Parameter hauptsächlich auf eine elektrogene Chloridsekretion in den Kryptenzellen zurückgeführt werden (1, 14, 64). Zudem reduzierte cAMP den elektroneutralen NaCl-Cotransport durch die Bürstensaummembran der Villuszellen (1, 14, 15).

Unsere Befunde würden sich durch eine Reduktion des elektrogenen Na⁺-Transports in mukoseröser Richtung in Gegenwart von Theophyllin erklären lassen. Da aber in der Literatur kein Hinweis auf eine Reduktion der elektrogenen Na⁺-Absorption bei erhöhtem intrazellulärem cAMP -Spiegel vorhanden ist, erscheint diese Erklärung nicht sehr wahrscheinlich.

Weinman et al. (63) fanden in der Bürstensaummembran des proximalen Tubulus der Kaninchenniere einen durch cAMP hemmbaren Na⁺/H⁺-Austauscher. Das Vorhandensein eines ähnlichen Mechanismus im Pansenepithel würde die sich in unseren Versuchen andeutende Veränderung des Na⁺-Fluxes nach Zugabe von Theophyllin hinreichend erklären. Der fehlende Wiederanstieg des ms- bzw. Netto-Natriumfluxes nach Ersatz des Theophyllin-haltigen Mediums durch Theophyllin-freies Medium (=Spülung) lässt sich dadurch erklären, dass in den Experimenten Fluxe über einen

Zeitraum von 30 Minuten gemessen wurden, wobei ein kurzfristiger Wiederranstieg der Natriumfluxe nicht erfasst wird. Für diese Erklärung spricht auch, dass, obwohl nach der Spülung ein kurzfristiger Anstieg des KSS beobachtet wurde, das auf 1h bezogene Ionenaquivalent des KSS in Gegenwart bzw. nach Ausspülen von Theophyllin nicht verschieden war.

Die von uns festgestellten Veränderungen der elektrophysiologischen Parameter sind auch mit dem Vorhandensein eines an der luminalen Seite des Pansenepithels lokalisierten $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ -Cotransportes, wie er von Greger (21) am dicken aufsteigenden Ast der Henle'schen Schleife beschrieben wurde, und der zu einer elektrogenen Absorption von Cl^- führt, recht gut erklärbar. Dabei wird luminal je ein Na^+ -Ion und ein K^+ -Ion zusammen mit zwei Cl^- -Ionen in die Zelle transportiert. Während das K^+ die Zelle bereits auf der luminalen Seite durch spezifische Kanäle wieder verlässt, kommt es auf der antiluminalen Seite mit der Nettoabsorption von Cl^- -Ionen zu einem Aufbau einer gegenüber der luminalen Seite des Epithels negativen Potentialdifferenz. Ein ähnlicher, durch cAMP stimulierbarer Transportprozess in umgekehrter Richtung führt in den Kryptenzellen des Dünndarms zur Sekretion von Cl^- (14) und zur Erhöhung der transepithelialen Potentialdifferenz (Lumenseite:negativ). Allerdings konnte in unseren Versuchen nach Zugabe von Theophyllin zum Medium keine Veränderung der transepithelialen Cl^- -Fluxe nachgewiesen werden. Dabei ist jedoch zu bedenken, dass eine Verringerung des Netto- Cl^- -Fluxes um 14% (s. Abb. 7) die durch Theophyllin hervorgerufene Abnahme des Kurzschlussstroms bereits erklären würde. In Anbetracht der recht grossen Streuung der Cl^- -Fluxe (Abb. 7) sind derartige Veränderungen natürlich nur schwer erfassbar.

Eine weitere mögliche Erklärung der elektrophysiologischen Befunde würde eine Stimulierung einer elektrogenen K^+ -Sekretion durch Theophyllin liefern. Foster und Mitarbeiter (17) stellten am proximalen Colon der Ratte

nach Zugabe von Theophyllin bzw. Dibutyryl-cAMP zum serösen Medium einen Anstieg des seromukösen Kaliumfluxes, aber keine Änderung des mukoserösen Kaliumfluxes fest. Ähnliche Ergebnisse erzielten McCabe und Smith (38, 52) mit 8-Bromo-cAMP sowie mit adrenergen Stimuli am Colon descendens des Kaninchens. Eine solche aktive, elektrogene Sekretion von Kalium (22) würde den von uns beobachteten Abfall der PD und des KSS nach Zugabe von Theophyllin befriedigend erklären. Nach neuesten Befunden von Wolffram scheint jedoch Theophyllin die Netto-K⁺-Sekretion nicht zu beeinflussen (unveröffentlichte Ergebnisse).

Eine Beteiligung transepithelialer Ca⁺⁺-Fluxe am Zustandekommen der transepithelialen Potentialdifferenz kann ausgeschlossen werden, da Ca⁺⁺ von der Pansenschleimhaut weder in nennenswertem Umfang absorbiert noch sezerniert wird (4).

Alles in allem konnte somit in der vorliegenden Arbeit an der isolierten Pansenmukosa ein Effekt von Theophyllin auf die transepitheliale Potentialdifferenz und den Kurzschlussstrom nachgewiesen werden. Die diesem Effekt zugrunde liegenden Veränderungen von Ionenfluxen konnten jedoch nicht objektiviert werden und müssen daher, soweit möglich, in weiteren Versuchen abgeklärt werden.

Da cAMP als "second messenger" von verschiedenen gastrointestinalen Hormonen und von β -adrenergen Transmittoren bekannt ist, könnte diesen Substanzen eine Bedeutung bei der Regulation des Elektrolyttransports durch das Pansenepithel zukommen. Auch dies muss allerdings in weiteren Untersuchungen geprüft werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war es, die Regulation des Elektrolyttransports durch die Pansenschleimhaut zu untersuchen.

Dabei wurden folgende Befunde erhoben:

- Sowohl bei Präparationen der Mukosa des dorsalen wie auch des ventralen Pansensacks konnte eine transepitheliale Potentialdifferenz bei der die seröse Seite gegenüber der mukösen Seite positiv geladen war, gemessen werden. In einigen Präparationen traten "paradoxe Potentialdifferenzen" auf, d.h. die muköse Seite des Pansenepithels war gegenüber der serösen Seite positiv geladen.
- Durch die kurzgeschlossene Pansenschleimhaut fand ein Nettotransport von Natrium und Chlorid vom mukösen ins seröse Medium statt.
- Nach Zugabe von Theophyllin, einem Phosphodiesterasehemmer, der die intrazelluläre cAMP-Konzentration erhöht, sank die transepitheliale Potentialdifferenz sowie der Kurzschlussstrom signifikant ab. Ein signifikanter Effekt von Theophyllin auf den transepithelialen Na^+ - und Cl^- -Transport konnte dagegen nicht nachgewiesen werden.

Es bleibt somit abzuklären auf welchen Ionentransport die durch Theophyllin hervorgerufene Verringerung der transepithelialen Potentialdifferenz sowie des Kurzschlussstroms zurückgeht.

SUMMARY

The goal of the present study was to investigate a possible regulation of the elektrolyte transport across the rumen epithelium.

Thereby the subsequent results were obtained:

- Epithelial preparations of the dorsal as well as the ventral rumen sac showed a positively charged transepithelial potential difference (PD) with respect to the blood side of the epithelium. In some preparations a "paradoxical PD" with a reversed distribution of the electrical charge was observed.
- Under short circuit conditions (PD clamped at zero) net transport of Na^+ and Cl^- from the mucosal (m) to the serosal (s) side of the epithelium occurred.
- Addition of theophylline, a potential inhibitor of the phosphodiesterase, which increases cellular cAMP concentration, resulted in a significant decrease of the PD as well as the corresponding short circuit current (SSC). However, no significant effect of theophylline on Na^+ and Cl^- -transport could be demonstrated.

Thus, further investigations are necessary to identify the ions responsible for the decrease of PD and SSC across the rumen epithelium in the presence of theophylline.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Binder, H.J.: Colonic secretion
in: *Physiology of the gastrointestinal tract*,
edited by Leonhard R. Johnson, pp 1007-1019
Raven Press, New York (1981)
2. Binder, H.J., Rawlins, C.L.: The effect of conjugated
dihydroxy bile salts on electrolyte trans-
port in the rat colon.
J.Clin. Invest. 52, 1460-1466 (1973)
3. Bridges, R.J., Rummel, W., Simon, B.: Forskolin induced
chloride secretion across the isolated
mucosa of rat colon descendens.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.
323, 355-360 (1983)
4. Chien Wan Ju, Stevens, C.E.: Coupled active transport of Na
and Cl across forestomach epithelium.
Am. J. Physiol. 224, 997-1003 (1972)
5. Diamond, J.M.: Transport mechanism in the gall bladder.
Handbook of Physiology, Section 6,
Vol. V: Bile, Digestion, Ruminant Physiology,
ch.115, pp. 2451-82. Washington D.C.
American Physiological Society (1968)

6. Dobson, A., Phillipson, A.T.: The forces moving chloride ions through rumen epithelium.
J. Physiol. 125, 26-27P (1954)
7. Dobson, A.: The forces moving sodium ions through rumen epithelium.
J. Physiol. 128, 39-40P (1955)
8. Dobson, A., Phillipson, A.T.: The absorption of chloride ions from the reticulo-rumen-sac.
J. Physiol. 140, 94-104 (1958)
9. Dobson, A.: Active transport through the epithelium of the reticulo-rumen sac.
J. Physiol. 146, 235-251 (1959)
10. Ferreira, H.G., Harrison, F.A., Keynes, R.D. : Studies with isolated rumen epithelium.
J. Physiol. 175, 28-29P (1964)
11. Ferreira, H.G., Harrison, F.A., Keynes, R.D., Nauss, A.H.: Observations on the potential across the rumen of the sheep.
J. Physiol. 187, 615-630 (1966)
12. Ferreira, H.G., Harrison, F.A., Keynes, R.D.: The potential and short-circuit-current across isolated rumen epithelium of the sheep.
J. Physiol. 187, 631-644 (1966)

13. Ferreira, H.G., Harrison, F.A., Keynes, R.D., Zurich, L.:
Ion transport across an isolated
preparation of sheep rumen epithelium.
J. Physiol. **222**, 77- 93 (1972)
14. Field, M.: Secretion of Elektrolytes and Water by
Mammalian Small Intestine.
in: **Physiology of the gastrointestinal tract**,
edited by Leonhard R. Johnson.
Raven Press, New York (1981)
15. Fondacaro, J.D.: Intestinal ion transport and diarrheal disease.
Am. J. Physiol. **250**, G1-G8 (1986)
16. Foster, E.S., Budinger, M.E., Hayslett, J.P., Binder, H.J.:
Ion transport in proximal colon of the rat.
J. Clin. Invest. **77**, 228-235 (1986)
17. Foster, E.S., Sandle, G.I. Hayslett, J.P., Binder, H.J.:
Cyclic adenosine monophosphate stimulates
active potassium secretion in the rat colon.
Gastroenerology **84**, 324-330 (1983)
18. Frizzell, R.A., Dugas, M.C., Schultz, S.G.: Sodium
chloride transport by rabbit gallbladder:
direct evidence for a coupled NaCl influx process.
J. Gen. Physiol. **65**, 769-795 (1975)
19. Frizzell, R.A., Koch, M.J., Schultz, S.G.: Ion
transport by rabbit colon.
I. Active and passive components.
J. Membr. Biol. **27**, 297-316 (1976)

20. Gemmel, R.T., Stacy, B.D.: Effects of ruminal hyperosmolality on the ultrastructure of ruminal epithelium and their relevance to sodium transport.
Q. J. exp. Physiol. 58, 315-323 (1973)
21. Greger, R.: Ion transport mechanisms in thick ascending limb of Henle's loop of mammalian nephron.
Physiol. Rev. 65, 760-797 (1985)
22. Halm, D.R., Frizzell, R.A.: Active K transport across rabbit distal colon: relation to Na absorption and Cl secretion.
Am. J. Physiol. 251, 252-267 (1986)
23. Harrison, F.A., Keynes, R.D., Nauss, A.H.: The effect of potassium on the potential across the rumen of the sheep.
J. Physiol. 171, 18-20 (1964)
24. Harrison, F.A., Keynes, R.D., Zurich, L.: Ion transport across isolated omasal epithelium of the sheep.
J. Physiol. 207, 24-25 (1970)
25. Harrison, F.A.: Ion transport across rumen and omasum epithelium.
Phil. trans. Roy. Soc. Lond.
B. 262, 301-305 (1971)

26. Harrison, F.A., Keynes, R.D., Rankin, J.C., Zurich, L.:
The effect of ouabain on ion transport
across isolated sheep rumen epithelium.
J. Physiol. **249**, 669-677 (1975)
27. Henrikson, R.C.: Developmental changes in structure of
perimental ruminal epithelium: basal in-
foldings, glycogen, and glycocalyx.
Z. Zellforsch. **109**, 15-19 (1970)
28. Henrikson, R.C.: Mechanism of sodium transport
across ruminal epithelium and histo-
chemical localization of ATPase.
Expl. Cell. Res. **68**, 456-458 (1971)
29. Henrikson, R.C.: Ultrastructure of ovine ruminal
epithelium and localization of sodium
in the tissue.
J. Ultrastructure Res. **30**, 385-401 (1970)
30. Henrikson, R.C., Stacy, B.D.: The barrier to diffusion
across ruminal epithelium. A study by
electron microscopy using horseradish
peroxidase, lathanum and ferritin.
J. Ultrastructure Res. **34**, 72-82 (1971)
31. Horvath, P.J., Ferriola, P.C., Weiser, M.M., Duffey, M.E.:
Localization of chloride secretion in
rabbit colon: inhibition by anthracene-9-
carboxylic acid.
Am. J. Physiol. **250**, 185-190 (1986)

32. Hyden, S.: Description of two methods for the collection of saliva in sheep and goats.
Ann. Roy. Agr. Coll. Sweden 24, 55 (1958)
33. Hyden, S.: Observations on the absorption of inorganic ions from the reticulo-rumen of the sheep.
Lantbr. Högsk. Anulr. 27, 273-285 (1961)
34. Keynes, R.D.: From frog skin to sheep rumen: a survey of transport of salts and water across multicellular structures.
Q. Rev. Biophys. 2, 177-281 (1969)
35. Keynes, R.D., Harrison, F.A.: Some aspects of potassium metabolism in the ruminant.
Vet. Rec. 81, 244-250 (1967)
36. Keynes, R.D., Harrison, F.A.: Transport of inorganic ions across the rumen epithelium.
in: Physiology of digestion and metabolism in the ruminant, 113-118 ed. Phillipson, A.T.
Oriel Press, Newcastle on Tyne (1970)
37. Knickelbein, R., Aronson, P.S., Schron, C.M., Seifter, J., Dobbins, J.W.: Sodium and chloride transport across rabbit ileal brush border. II. Evidence for Cl-Bicarbonate exchange and mechanism of coupling.
Am. J. Physiol. 249, 236-245 (1985)
38. McCabe, R.D., Smith, P.L.: Colonic potassium and chloride secretion: role of cAMP and calcium.

Am. J. Physiol. 248, 103-109 (1985)

39. Medl, M.: Untersuchungen zur postnatalen Entwicklung des Natrium- und Chloridtransports der Pansen- und Kropfmukosa.
Diss. med. vet. München (1979)
40. Medl, M., Scharrer, E.: Nachweis eines aktiven transepithelialen Natriumtransports an der Kropfmukosa des Huhnes.
Zbl. Vet. Med. A, 25, 441-449 (1978)
41. Metzger, H., Lindner, E.: The positive inotropic acting Forskolin, a potent adenylatcyclase activator.
Drug Res. 31, 1248-1250 (1981)
42. Parthasarathy, D., Phillipson, A.T.: The movement of potassium, sodium, chloride and water across the rumen epithelium of sheep.
J. Physiol. 121, 452-469 (1953)
43. Powell, D.W., Faris, R.K., Carbonelta, S.T.: Theophylline, cyclic AMP, cholera toxin and electrolyte transport by rabbit ileum.
Am. J. Physiol. 227, 1428-1435 (1974)
44. Sachs, L.: Angewandte Statistik, 6. Auflage, 244-246
Springer-Verlag, New York-Heidelberg-Berlin (1984)
45. Scharrer, E., Medl, M., Liebich, H.-G.: Changes in the structure and function of the rumen epithelium during development. III. Effect of liquid versus solid diet on Na and Cl transport across lamb rumen epithelium.
Zbl. Vet. Med. A, 30, 767-774 (1983)

46. Schnorr, B., Vollmerhaus, B.: Die Feinstruktur des Pansen-
epithels von Ziege und Rind.
Zbl. Vet. med. A, 14, 789-818 (1967)
47. Schnorr, B., Wille, K.H.: Zonulae occludentes im Pansen-
epithel der Ziege.
Z. Zellforsch. 114, 365-389 (1972)
48. Scott, D.: The effects of sodium depletion and
potassium supplements upon electrical
potential in the rumen of the sheep.
Q. J. exp. Physiol. 51, 60-69 (1966)
49. Scott, D.: The effect of potassium supplements upon
the absorption of potassium and sodium
from the sheep.
Q. J. exp. Physiol. 52, 382-391 (1967)
50. Scott, D.: Absorption of chloride from the
rumen of the sheep.
Res. Vet. Sci. 11, 291-293 (1970)
51. Sellers, A.F., Dobson, A.: Studies on reticulorumen
sodium and potassium concentrations and
electrical potentials in sheep.
Res. Vet. Sci. 1, 95-102 (1960)
52. Smith, P.L., McCabe, R.D.: Potassium secretion
by rabbit descending colon:
effects of adrenergic stimuli.
Am. J. Physiol. 250, 432-439 (1986)

53. Sperber, J., Hyden, S.: Transport of chloride through the ruminal mucosa.
Nature **169**, 587 (1952)
54. Sperber, J., Hyden, S., Ekman, I.: The use of polyethylene glycol as a reference substance in the study of ruminant digestion.
Ann. Roy. Agr. Coll. Sweden **20**, 337 (1953)
55. Stacy, B.D., Warner, A.C.I.: Acute effects of hypertonicity on the potential difference across the rumen wall in the sheep.
Comp. Biochem. Physiol. **43A**, 637-641 (1972)
56. Stacy, B.D., Warner, A.C.I.: Balances of water and sodium in the rumen during feeding: osmotic stimulation of sodium absorption in the sheep.
Q. J. exp. Physiol. **51**, 79-93 (1966)
57. Stevens, C.E.: Transport of sodium and chloride by the isolated rumen epithelium.
Am. J. Physiol. **206**, 1099-1105 (1964)
58. Ussing, H.H., Zerahn, K.: Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited, isolated frog skin.
Acta Physiol. Scand. **23**, 110-127 (1951)
59. Warner, A.C.I., Stacy, B.D.: Solutes in the rumen of the sheep.

Q. J. exp. Physiol. 50, 169-184 (1965)

60. Warner, A.C.I., Stacy, B.D.: The fate of water in the rumen.

Brit. J. Nutrition 22, 389-410 (1968)

61. Warner, A.C.I., Stacy, B.D.: Intramural and systemic responses to variations in intake of sodium and potassium by sheep.

Q. J. exp. Physiol. 57, 89-102 (1972)

62. Warner, A.C.I., Stacy, B.D.: Water, sodium and potassium movements across the rumen wall of the sheep.

Q. J. exp. Physiol. 57, 103-119 (1972)

63. Weinman, E.J., Shenolikar, S., Kahn, A.M.: cAMP -associated inhibition of Na/H exchanger in rabbit kidney brush-border membranes.

Am. J. Physiol. 252, 19-25 (1987)

64. Welsh, M.J., Smith, P.L., Fromm, M., Frizzell, R.A.: Crypts are the site of intestinal fluid and electrolyte secretion.

Science 218, 1219-1221 (1982)

65. Würmli, R., Wolfram, S., Scharer, E.: Inhibition of chloride absorption from the sheep rumen by nitrate.

J. Vet. Med. A, 34, 476-479 (1987)

Mein besonderer Dank gilt:

Herrn Professor Dr. E. Scharrer für die Ueberlassung
des Themas und für die jederzeit gewährte freundliche
Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Professor Dr. E. Jenny für die Uebernahme des
Korreferates

Herrn Dr. S. Wolfram für die stets bereitwillige Mithilfe
bei der Planung, Durchführung und Abfassung der Arbeit.

Frau S. Pletscher für die Anfertigung der graphischen
Darstellungen.

sowie dem Beraterteam des Instituts für Informatik der
Universität Zürich

LEBENS LAUF

- 1959 geboren am 25. Januar in Zürich als Sohn von
Hans Frischknecht und Ruth Frischknecht geborene Senn
- 1966-1972 Primarschule in Adliswil
- 1972-1979 Mittelschule am Gymnasium Freudenberg Zürich
Matura Typus B
- 1980 Militärdienst in Genf
- 1980-1985 Studium der Veterinärmedizin an der Universität Zürich
- 1985 im Herbst, Staatsexamen an der Universität Zürich
- 1985 seit Dezember, Doktorand am Institut für Veterinär-
physiologie der Universität Zürich

